

(19) 世界知的所有権機関  
国際事務局



(43) 国際公開日  
2003 年 9 月 18 日 (18.09.2003)

PCT

(10) 国際公開番号  
WO 03/075686 A1

- (51) 国際特許分類: A23L 1/30
- (21) 国際出願番号: PCT/JP03/02850
- (22) 国際出願日: 2003 年 3 月 11 日 (11.03.2003)
- (25) 国際出願の言語: 日本語
- (26) 国際公開の言語: 日本語
- (30) 優先権データ:  
特願 2002-112687 2002 年 3 月 11 日 (11.03.2002) JP  
特願 2002-309152 2002 年 10 月 24 日 (24.10.2002) JP
- (71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): サントリー株式会社 (SUNTORY LIMITED) [JP/JP]; 〒530-8203 大阪府 大阪市 北区 堂島浜 2 丁目 1 番 4 0 号 Osaka (JP).
- (72) 発明者; および
- (75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 阿部 圭一 (ABE, Keiichi) [JP/JP]; 〒563-0023 大阪府 池田市 井口堂 3-3-1-6 0 5 Osaka (JP). 飯野 妙子 (IINO, Taeko) [JP/JP]; 〒520-0113 滋賀県 大津市 坂本 1-2 4-1 2 Shiga (JP). 藤居 瓦 (FUJII, Wataru) [JP/JP]; 〒567-0887 大阪府 茨木市 西中条 町 4-5-2 0 2 Osaka (JP). 諏訪 芳秀 (SUWA, Yoshhide) [JP/JP]; 〒567-0009 大阪府 茨木市 山手台 6-7-1 6 Osaka (JP).
- (74) 代理人: 社本 一夫, 外 (SHAMOTO, Ichio et al.); 〒100-0004 東京都 千代田区 大手町二丁目 2 番 1 号 新大手町ビル 2 0 6 区 ユアサハラ法律特許事務所 Tokyo (JP).
- (81) 指定国 (国内): AU, CA, CN, JP, KR, SG, US.
- (84) 指定国 (広域): ヨーロッパ特許 (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PT, RO, SE, SI, SK, TR).
- 添付公開書類:  
— 国際調査報告書
- 2 文字コード及び他の略語については、定期発行される各 PCT ガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイダンスノート」を参照。

(54) Title: PROCESS FOR PRODUCING SDG AND FOODS AND DRINKS CONTAINING THE SAME

(54) 発明の名称: S D G の製法およびその配合飲食物

(57) Abstract: It is intended to provide a process for producing SDG (secoisolariciresinol diglycoside) which is known as serving as a precursor of enterolactone, enterodiols, etc. having a female hormone-like activity; and foods and drinks efficacious against various symptoms caused by female hormone disorders such as menopause, osteoporosis, hyperlipemia, hypertension, obesity, depression and hot flash which can be produced by adding SDG.

(57) 要約: 本発明は、女性ホルモン様活性を有するエンテロラクトン、およびエンテロジオールなどの前駆体となることが知られている S D G (セコイソラリネシロール ジグリコシド) を製造するための方法、および、S D G を配合することにより製造可能となる、女性ホルモンの乱れからくる諸症状、たとえば更年期障害、骨粗鬆症、高脂血症、高血圧症、肥満、鬱、ほてりなどに有効な食品および飲料を提供するものである。

WO 03/075686 A1

## 明細書

## SDGの製法およびその配合飲食物

技術分野

- 5      本発明は、女性ホルモン様活性を有するエンテロラクトン、およびエンテロジオールなどの前駆体となることが知られており、リグナン化合物の一つであるSDG（セコイソラリシネシロール ジグリコシド、図1参照）を製造するための方法、および、SDGを配合することにより製造可能となる、女性ホルモンの乱れからくる諸症状、たとえば更年期障害、骨粗鬆症、高脂血症、肥満、鬱などに
- 10    有効な食品および飲料に関するものである。

背景技術

- 更年期障害は、閉経期を迎えエストロゲンが低下することによるホルモンバランスの乱れを原因とする諸症状と考えられ、閉経期までの数年間継続する症状である。更年期に特徴的な症状としては、鬱、ほてり、などが知られている。また、
- 15    更年期を過ぎると、閉経が訪れるが、これに伴う症状として、骨粗鬆症、高脂血症、高血圧症、肥満、鬱、などが挙げられる。

- いずれも健康維持に大きな影響を与えるものであることから、適切な対処法が望まれている。治療法としては、対症療法として、骨粗鬆症、高脂血症、高血圧症、肥満、鬱に対する個別の治療法が選択される場合もあるが、これらに有効と
- 20    されているのがHRTすなわちホルモン療法である。症状が複数あっても、女性ホルモンをとることで劇的な改善が得られる場合も多い。

- しかし、このHRTには、乳がん、子宮ガンなどの発ガン性のリスクがあることと、擬似生理による出血などの問題もある。発ガン性に関しては、プロゲステロンとの併用によりほぼ解消されたと考えられているが、発ガン性のイメージは
- 25    根強く、かつ出血の問題などを併せて、HRTに踏み切る例は、期待効果の大きさほどには多くないと言える。

HRTに匹敵する効能が食品で得られれば、大きなメリットを産み出すことは容易に想像できる。こうした中、近年、日本はもとより米国でも注目を集めてい

るのが植物エストロゲンである。

植物エストロゲンの代表は、大豆イソフラボンであり、最近注目を集めている食品素材である。大豆イソフラボンは、女性ホルモン様作用を示す成分として知られていることから、女性ホルモンの乱れからくる諸症状、たとえば更年期障害、骨粗鬆症、高脂血症、肥満、鬱などに有効となる知見が数多く得られている。大豆胚芽抽出物に含まれる大豆イソフラボンは、ゲニステイン（Genistein）、ダイゼイン（Daidzein）およびグリシテイン（Glycitin）などの総称であり、ほとんどが配糖体として存在し、腸内微生物によってアグリコン化され、吸収されるものと考えられている。

- 10 大豆イソフラボンは構造的にエストロゲンと共通な性質を有することから、エストロゲン受容体に結合することが予想されるが、実際、エストロゲン受容体 ER  $\beta$  に選択性をもって結合することが報告されている（Endocrinology 139, 4252(1998)）。

- 15 植物エストロゲンは、古くからその存在は知られており、牛の乳の出を良くするなどの効能のほか、大量摂取により不妊となることも知られている。このことから、その使用には十分な注意が必要となる。ヒトにおける安全性を重視した場合、食経験に基づく安全性が最も重要と考えられる。

- 日本人は、米国人に比べて子宮ガン、乳がん、および男性の前立腺ガンの発症率が極めて低いと同時に、更年期症状も軽いことが知られている（J.Nutrition 125, 757S(1995)）。血中のイソフラボン濃度は、これを説明する大きな根拠となるが、日本人は米国人に比べ、約 10 倍以上あることが確認されている。さらに、大豆イソフラボンは培養細胞や動物を用いた試験により、乳がん、子宮ガンの増殖を抑制することを始め、閉経モデルである卵巣摘出ラットを用いて、骨吸収過程を抑制することにより骨粗鬆症を改善すること、閉経に伴う高脂血症を改善すること、肥満を抑制すること、などの多くの有効性に関する知見が得られている。

- 25 こうした知見により、大豆イソフラボンは更年期を始めとする多くの症状を改善する効果が期待でき、かつ安全性も高い植物エストロゲンであると結論づけてよいものと判断できる。

日本人のイソフラボンの平均摂取量は、1 日約 20mg と考えられている。積極

的にイソフラボンを摂取することが推奨されており、イソフラボン摂取を目的とした食品に関して、(財)日本健康・栄養食品協会では、イソフラボン含有食品と呼ぶイソフラボンを含有する食品における摂取目安量を 10~90mg としている。また、特定保健用食品としても骨吸収抑制作用に基づき、厚生労働省により

5 安全で効能がある素材として許可を得るまでに至っている。

このイソフラボン以外にも、多くの植物エストロゲンと呼ばれる成分が知られている。例えば、ホップに含まれるプレニルナリンゲニン、アルファルファに含まれるクメステロール、そして、最近注目を集めているのは亜麻に含まれるリグナン化合物である。

10 植物エストロゲンの摂取を地域別に分析すると、東洋ではイソフラボンを主に摂取しているのに対し、北欧では、リグナンを主に摂取していることが判明している。両方の地域ともに、乳がんの発症率および更年期症状の重症度が低いことでその他の地域よりも植物エストロゲンの摂取による恩恵を得ていることが統計的にも示されている。

15 特にホルモンの作用を有するような活性成分は摂取に十分な注意が必要となる中、イソフラボンとリグナンには、疫学的な有用性を示す知見が存在することからも、イソフラボンとリグナンは世界の 2 大植物エストロゲンとして研究者によって位置付けられている。

亜麻に含まれるリグナン化合物(亜麻リグナン)は腸内細菌に変換されてエン  
20 テロラクトン、エンテロジオールなどの女性ホルモン様作用を示す活性成分に変換されることが明らかにされた(Nature 298, 659(1982))。ここで注目すべき点は、リグナン含有植物素材の中で特に亜麻種子に含まれる SDG などのリグナンが活性成分に変換される効率が低いことがトンプソンらの研究によって明らかになったことである(Flaxseed in Human Nutrition, Chapter 5(p82-98), academic press,  
25 AOCS Press (1995))。

このように、亜麻リグナンが注目されているが、亜麻自体は古くは新石器時代より食されている他、古代ギリシャ、ローマ、あるいはエジプト時代から現代に至るまで食用とされつづけている。しかし、亜麻種子のままの摂取においては、殻が硬く摂取しても有効に成分が利用されにくいこと、油の含有率が高く高カロリー

リー食品であること、シアン配糖体が含まれていること、およびビタミン B のアントゴニストの存在などの問題がある。さらに、亜麻種子の油は不飽和脂肪酸の含量が多いため劣化しやすく、日本では工業用油としての利用がほとんどであり、これまで食用としては注目されていなかった。

- 5 わが国では、通常の食生活においては豆製品の摂取から判断してイソフラボンの摂取はある程度高いレベルを保っていると判断できるのに対し、リグナン型の植物エストロゲンに関しては、摂取量が低いことが指摘されている。しかし、亜麻リグナンを高含有する食品はほとんど存在せず、これらを解決した食品素材の開発が望まれていた。
- 10 一方、亜麻に含まれるリグナン化合物を食品添加物として利用するという報告がある。特開平 11-221048 にはイソフラボン、リグナン、サポニン、カテキン、およびフェノール酸を用い、のぼせ、骨粗鬆症、睡眠障害、膣乾燥、月経前症候群を軽減または予防する方法が記載されており、リグナン類の例として亜麻リグナンが記載されている。また、特許第 306525 号には、退色防止剤としてリグナン化合物が開示され、SDG がリグナン化合物の例として記載されている。しか
- 15 し亜麻リグナンの生理作用については解明されていない。

- また、リグナンの製造法に関しては、亜麻種子からのリグナンの抽出法に関する米国特許第 5, 705, 618 号がある。該特許には、アルコール抽出後、濃縮して更にアルカリ処理をするという方法が記載されている。また、日本特許第
- 20 3065925 には、亜麻種子からのアルコール抽出物または粗リグナン配糖体濃縮物を酵素処理もしくは酸処理する方法が開示されている。しかし、これらの製法は、工程が複雑でかつコスト面も改善余地を残すものである。また、亜麻種子にはたん白質が多く含有されることが知られているが、これらの方法ではアミノ酸含有量の低いものしか得られない。

25

#### 発明の開示

本発明の目的は、女性ホルモン様活性を有するエンテロラクトン、およびエンテロジオールなどの前駆体となることが知られている SDG（セコイソラリシネシロール ジグリコシド）の効率的な製造法を開発し、SDG を含有する新規食

品素材を実用に供することである。

本発明のさらなる目的は、本発明の新規食品素材を配合した、女性ホルモン（主としてエストロゲン）の乱れからくる諸症状、たとえば更年期障害、骨粗鬆症、高脂血症、高血圧症、肥満、鬱、ほてりなどの予防および症状軽減に有効な健康食品も含む形態、ジャンルを問わない食品および飲料を提供することである。

本発明者らは、植物エストロゲンに着目し、さらに亜麻リグナンの生理作用について鋭意検討した結果、驚くべきことに亜麻リグナンに含まれる SDG が女性ホルモンの乱れから来る諸症状たとえば、更年期障害、骨粗鬆症、高血圧症、高脂血症、肥満症、鬱、ほてりなどに対して有効であることを見出した。

- 10 さらに、本発明者らは、亜麻種子等に含まれるリグナン化合物 SDG を効率よく、しかも高収率で製造する方法を開発した。本発明においては、SDG を含む植物材料、例えば亜麻種子またはその脱脂残渣を、塩基性アルコールで抽出する。本発明によれば、驚くべきことに、塩基性アルコールにより抽出と加水分解を同時に行っても、高収率でリグナン化合物 SDG が回収でき、更に原料由来のアミノ酸を合わせて回収することができることが判明した。

従来の、抽出と加水分解を別途行う方法では、両工程の間に濃縮工程も必要であり、事実上 3 工程が必要であった。これに対して、本発明の方法は 1 工程でリグナン化合物の抽出が可能であり、SDG の製造が非常に効率化される。

## 20 図面の簡単な説明

図 1 は、SDG の構造式を示す。

図 2 は、抗肥満効果試験における体重の変化を示す。

図 3 は、ほてりの改善とイソフラボンとの併用効果を示す。

図 4 は、更年期障女性の不定愁訴改善効果を示す。

25

## 発明を実施するための最良の形態

本発明における有効成分である SDG の製造原料としては、リグナン、特に SDG を含有する天然物であれば使用することができる。例えばリグナンは、オーツ麦、コーン、ライ麦、蕎麦、小麦などの全粒穀物中に 2~8mg/kg で含まれて

いる。亜麻種子には、全粒穀物の 100 倍にも相当する 800mg/Kg のリグナンが含有されていると報告されており、SDG の製造原料として特に好ましい。

また、SDG の製造原料としては、亜麻種子を破碎した後、ヘキサンなど、食品の製造に利用できる溶剤で抽出脱脂したものを利用できるが、より望ましくは工業的に亜麻種子から油をヘキサン抽出した残さ、脱脂亜麻粕を用いるのが適当である。この脱脂亜麻粕は通常廃棄されるか家畜の飼料用に用いられており、食品には有効利用されていなかった。

脱脂亜麻粕からの SDG の製法に関しては、二つの留意点がある。一つは亜麻種子に含まれる粘性ムコ多糖の存在、もう一つはリグナン化合物の糖鎖による高分子化である。これらを考慮して開発した SDG の効率的製造法は、分解と同時に抽出するものである。

まず、溶媒に関しては通常植物原料を抽出するのに使われるものが利用可能となるが、特に食品原料として利用可能な溶媒が望ましい。最も適当なのは、食品用のアルコールであり、例えば、メタノール、エタノール、プロパノール、イソプロパノール、ブタノールである。抽出に使用するアルコールは、粘性ムコ多糖が抽出されない濃度にする必要があり、30 から 100% (v/v) の濃度が望ましいが、例えば 50% (v/v) アルコールで抽出することができる。

さらに、上述の濃度では抽出できない SDG をアルカリ条件下に抽出することで糖鎖を加水分解し未抽出 SDG を抽出させることにより抽出効率を高めることが可能となる。

このことから、アルカリ条件による加水分解と抽出を併せる方法として、本発明の塩基性アルコール抽出法は、目的成分の回収量を高めると同時に工程を簡素化できることから工業的に大きなメリットを有する方法である。また、塩基性アルコールによる抽出法により、亜麻種子に含まれるたん白質がアミノ酸の形で従来法に比べ効率よく抽出される点からも、本発明の製法は有効である。

亜麻粕に対して用いる抽出液は亜麻粕に対して 1 から 20 倍量が適当であるが、バッチ処理に対して循環型の抽出装置ならばより少量の抽出液量で済むことになる。

塩基性アルコール抽出工程に用いるアルカリは、食品製造に利用できるものな

ら特にその種類は選ばないが、例えば、NaOH を用いることができる。

添加する NaOH の濃度としては、処理する亜麻粕の量に依存するが、0.05 から 2N の NaOH、より好ましくは 0.1 から 0.2N である。

5 塩基性アルコールによる抽出に関しては、通常のアルコール抽出よりも短時間で  
行なうことができ、室温で行なう場合には 30 分ないし 3 時間、典型的には約  
1 時間で抽出が完了する。抽出温度は、通常の出装置ならばアルコールの沸点  
以下が望ましく、例えば室温から 70 度までの温度が望ましい。加圧可能な抽出  
装置を利用すれば、より高温での処理も可能となる。

10 抽出物は、最終的に中和する必要がある。この中和には酸を用いるが、望まし  
くは食品製造に用いることが出来る酸、たとえば酢酸、塩酸などが良い。添加す  
る酸の量は、抽出物を中和するのに必要な量である。

15 塩基性アルコール抽出された段階の本発明の SDG 高含有物は、SDG は原料  
から 1 ないし 2 % 回収される。さらに、アミノ酸として、疲労回復、体力増強な  
どが期待できるとされるグルタミン酸、筋肉に取り込まれて直接エネルギー源と  
なると考えられているバリン、イソロイシン、ロイシン等を、従来の方法で抽出  
した SDG 高含有物に比べて約 8 ~ 10 倍も多く含んでいる。従って本 SDG 含  
有組成物をそのままあるいは飲食物の形態に加工あるいは飲食物に添加して摂取  
した場合には SDG の効果に加え、疲労回復、体力増強などの効果も得られる。  
この SDG 高含有物には、シアン配糖体はほとんど含まれていないので、脱塩し  
20 てそのまま食品素材として用いることが可能である。さらに純度アップを目的と  
して精製工程でより高含有の食品素材にすることも可能である。精製方法として  
は、食品製造に適する方法であればその手段を選ばないが、例えば、活性炭ある  
いは、シリカゲル、逆相系樹脂 (ODS)、およびスチレンジビニルベンゼン系吸  
着樹脂 (ダイアイオン HP20、三菱化学製)、あるいは、樹脂を用いない方法と  
25 して、CPC 法 (遠心液々分離法)、結晶化法、あるいは溶媒に対する溶解性の  
違いを利用した分画法などを利用することができる。

目的に応じて、用いる条件により、SDG の含有量は固形分当たり 10 % から  
90 % 以上にまで高めることが可能である。特に高純度のサンプルの調製には ODS  
を用いた分取用 HPLC カラムクロマトグラフィーを繰り返すことにより得るこ



とが可能である。

亜麻種子には粘性物質が含有されることから食品・飲料への配合は困難であったが、本発明の製法によれば、この粘性物質を分解することにより、健康維持に有効なリグナン化合物としてSDGを食品・飲料に配合することが可能となった。

- 5 得られたSDG高含有物は通常の減圧濃縮法、あるいは、スプレードライ法、凍結乾燥法などにより乾燥し、好ましくは粉末物にすることができる。

- したがって、本発明は、本発明の方法により抽出される新規SDG高含有食品素材も提供する。本発明により得られたSDG高含有食品素材は、SDGが40重量%までは無色、無臭、無味であり、水に対する溶解性が大きいので、単独でも粉末食品として、または、きな粉などの粉末食品に混入して食することも可能であり、あるいは食品素材として添加するものとして種々の食品や飲料の製造のために使用することもできる。

本発明は更に、SDGを配合することにより、容易に摂取すべき量のSDGを摂取することができる、経口摂取用組成物を提供する。

- 15 SDGを配合した本発明の食品・飲料は、女性ホルモン、特にエストロジェンの乱れからくる諸症状の予防や軽減のために、特に適することが見出された。本発明のSDG含有食品は、SDGとして1日当たり1mgから1000mg、より望ましくは5mgから500mg、特に望ましくは10から250mg摂取されるよう食品に配合するよう設定できる。SDG配合量は食品の利用目的により選択され、
- 20 毎日継続摂取可能な形態の食品に利用する場合には、例えば10mgから90mgで良い。一方、より保健的な用途を望む場合には、例えば500mgまでの配合も可能となる。

- 粉末食品あるいはタブレットなどの水分含量が低い食品形態、あるいはそのものの摂取量が少ない場合、SDG配合割合は高めに設定される。用途に応じた摂取量の違いを考慮してSDGを重量あたり例えば0.1%から90%含有するものを調整した食品の開発が可能となる。

また、飲料、レトルト食品等をはじめとする水分含量が多くそのもの自体の摂取量が多い場合にはSDG含量をそれに応じて減らすことができ、重量あたり例えば0.001%から10%までの配合が望ましい。

本発明のSDG高含有物は、一般食品の他、機能性食品、栄養補助食品等の原材料に使用することができる。例としてパン、ビスケット、シリアルバーなどの固形状の食品や、ジュース、スープなどの液状の食品が挙げられる。機能性食品の場合、粉末、顆粒、タブレット、ソフトカプセル、ハードカプセル、内服液、シロップ等の加工形態が挙げられる。これらは、通常使用される方法により製造することができる。

またタブレットを製造する場合であれば、賦形剤としてセルロース、乳糖、デキストリン、粉糖、コーンスターチ、還元麦芽糖、ショ糖脂肪酸エステルなど一般的に使用されているものがいずれも使用できるが、これらに限られるものではない。

防湿等のためセラック、カルバナロウ、砂糖などを用いることもあるが、適切にコーティングできるものであれば特に制限はない。その他、他の機能性成分としては抗酸化作用を有する素材、例えばビタミンE、ポリフェノール、カルシウム等のミネラルを配合してもよい。

さらに、水に対する溶解性が高いこと、味、香りともに配合に大きな影響をもたらし、さらさないことから保健の目的を持った飲料にも利用可能となる。味付けとしてはお茶や清涼飲料、ドリンク剤（粉末ドリンクも含む）などの種々の形態が採用可能となる。通常の飲料形態の場合、0.01mg/mlから10mg/mlの推奨配合量が設定できる。さらに濃縮タイプの飲料の場合には、上限の配合量は濃縮度に応じて高めれば良いことになる。

これまでSDGとイソフラボンの有効性に関する比較については十分なデータが存在しない。これらの活性比較試験を実施し、SDGがイソフラボンと同等あるいはそれ以上の効能を有すること、および、両者を組合せた場合により大きな効果がもたらされることが明らかとなった。SDGとイソフラボンを組み合わせた食品は、本発明によりはじめて提供されるものであり、女性ホルモンの乱れからくる諸症状、たとえば更年期障害、骨粗鬆症、高脂血症、高血圧症、肥満、鬱、ほてりなどに非常に有効な食品および飲料を提供することが可能である。

イソフラボンの配合量は1日当たり例えば10～90mg摂取できるように配合される。

#### 実施例

以下、本発明に関して、実施例を示して更に説明する。

### 実施例 1

#### 抽出法

市販の亜麻粕を原料とし、亜麻粕 1 k g を 10L の 50% エチルアルコールに懸濁  
5 後、4N の NaOH を 400m l 添加した。攪拌しながら温度を 50℃ に上げ、1 時間  
抽出した。酢酸を用いて中和後、ろ過し、減圧下濃縮することにより塩基性アル  
コール抽出物 242 g を得た（組成物 1）。

比較のために、NaOH を添加なしに抽出したものを調製した、すなわち亜麻粕  
100 g を 50% エチルアルコール 1L で 50℃、4 時間抽出後、抽出物をろ過し、4N  
10 の NaOH を 40m l 添加後 4 時間 50℃ で分解処理した。これを中和後、減圧下濃  
縮し、11.1 g の抽出物を得た（組成物 2）。

### 実施例 2

#### SDG 分析法、結果

上記組成物 1、2 に関して SDG の抽出量を HPLC 分析により比較した。

15 分析方法は、ODS カラム（Deverosil 5HG-3、4.6 x 50mm、野村化学社製）  
を用い、0.1% TFA（トリフルオロ酢酸）存在下、流速 1m l /min、8 分間で 10%  
から 80% にアセトニトリル濃度を増加させるグラディエント条件にて分析を行  
った。モニターは 280nm の波長にて UV 検出器にて行い、ピーク高をもとに定量  
分析した。

20 サンプルは水に溶解して測定を行った。

結果を表 1 に示す。

SDG は、本分析条件において、3.8 分のリテンションタイムに現れるピーク  
として検出可能である。

25 アルコール抽出した組成物 2 に比べ、塩基性アルコール抽出した組成物 2 では、  
約 2 割収率が高いことが確認された。

表1 塩基性アルコール抽出法による回収率の上昇

	原料	回収固形物	SDG 含量
塩基性アルコール抽出法	1Kg	242 g	15g
アルコール抽出法	100 g	11.1 g	1.3g

実施例 3

## アミノ酸分析法、結果

- 5 亜麻種子にはたん白質が多く含有されていることが知られているが、アルコール濃度を高めると抽出しにくいことが予想された。そこで、塩基性アルコール処理によりアミノ酸含有量が高められるかどうかを検討するために、アミノ酸分析を行った。分析は、日立アミノ酸分析システム L8800 形高速アミノ酸分析計により、アミノ酸（OPA 法）分析システムを用いて行った。
- 10 結果を表 2 に示す。塩基性アルコール抽出した新規製法により、従来法では少量しか抽出されていなかったアミノ酸、特に疲労回復、体力増強などが期待できるとされるグルタミン酸の抽出率が 8.1 倍上昇するとともに、筋肉に取り込まれて直接エネルギー源になると考えられているバリン、ロイシン、イソロイシンなどのアミノ酸含量が約 8～11 倍に上昇したことから、本発明の製法により、こう
- 15 した有効成分が効率的に回収できることが確認され、本発明の製法の有効性が確認された。

表 2 塩基性アルコール抽出法による  
アミノ酸回収率の上昇

	1g 亜麻粕あたりのアミノ酸抽出量 (mg)			
	グルタミン酸	バリン	イソロイシン	ロイシン
塩基性アルコール抽出法	22	38	33	47
アルコール抽出法	2.7	3.6	4.2	4.3
比較 (倍率)	8.1	10.6	7.9	10.9

実施例 4

## HP 20 精製

実施例 1 で得られた組成物 1 の 242 g (SDG 15 g 含有) を水 2L に溶解し、これをダイアイオン HP 20 (8 cm  $\phi$  x 60 cm カラム) に負荷した。8L の水で洗  
 5 浄後、40% エタノール (v/v) 5L で溶出した。溶出は流速 1 v v m で実施した。得られた分画物 (組成物 3) は、39 g、SDG 含量 14.3 g となった。

組成物 3 と同様に実施例 1 と上述の作業で繰り返し分取して得た 95 g (SDG 36.6 g 含有) を水 500m l に溶解し、これをダイアイオン HP20 (8 cm  $\phi$  x 40 cm カラム) に負荷した。水で洗浄後、10%、15%、20%、40% エタノール (v/v)  
 10 v) 5L ずつでステップワイズ溶出した。溶出は流速 1 v v m で実施した。

分画結果を表 3 に示す。SDG は、10% エタノールではほとんど溶出されなかった。引き続き 15%、20% エタノールで溶出した結果、SDG 14.1 g、16.6 g が回収された。純度はそれぞれ 74.2%、91.0% となった。さらに、40% エタノールで溶出した結果、SDG 2.9 g が回収され、純度は 11.8% であった。また、これ  
 15 以上エタノール濃度を上昇させても SDG は溶出されなかった。

この結果から、HP 20 を用い、純度の高い SDG を調製することが可能となった。例えば、アルコール濃度 15% 以上で溶出するのが好ましい。

なお、今回の 20% エタノール溶出面分 (組成物 4) を、効能試験に供した。

表 3 HP20 による分画のまとめ

溶出アルコール濃度	固形物 (g)	SDG (g)	SDG 含有率 (%)
10% エタノール	18	1.1	6.1
15% エタノール	19	14.1	74.2
20% エタノール	18.25	16.6	91.0
40% エタノール	24.5	2.9	11.8
合計	79.75	34.7	43.5

20

実施例 5

効能 1 ; 脂質、骨への効果とイソフラボンとの併用効果

更年期モデル動物を用いたエストロゲン様作用に関する試験

閉経後はエストロゲンの低下に伴う破骨細胞の活性化によって骨量が低下し、骨粗鬆症様の症状が起こることが知られている。また、エストロゲンの低下に伴って脂質代謝のバランスが崩れ、高脂血症や高コレステロール血症などの症状が生じやすい。雌ラットの卵巢を摘出するとエストロゲンレベルが低下して上記の  
5 ような症状を呈するため、更年期障害のモデル動物として汎用される。SDGがエストロゲンの低下を補うことによってこれらの更年期障害を抑制する効果を確認するため、卵巢摘出ラットを用いた実験を行なった。

卵巢摘出による骨粗鬆症モデルラットの作製：

Wistar 系ラット（日本チャールズリバー）、♀、34 匹に6週齢で卵巢摘出手術  
10 （OVX）、同週齢の9匹に疑似手術（Sham）を施し、ラット用一般飼料 CE-2（日本クレア）にて飼育した。2週間後、卵巢摘出ラットを4群（n=8~9）に分け、それぞれⅠ~Ⅳ群とした。陽性対象として、疑似手術を施した卵巢非摘出群（Ⅴ群、n=9）を設けた。

卵巢摘出ラットの飼育：

15 飼料は、AIN-93M 配合 Ca 無添加精製飼料（オリエンタル酵母工業製）を基本飼料として、Ⅰ群およびⅤ群に4週間自由摂取させた。Ⅱ群には大豆イソフラボン、Ⅲ群には組成物4（SDG91%含有）、Ⅳ群には大豆イソフラボン（80%含有）および組成物4を基本飼料にそれぞれ0.1%添加した飼料を摂取させた。飼育終了日にラットの体重を測定した後、解剖して採血および右脚大腿骨の摘出  
20 を行なった。

骨量低下抑制効果の判定：

ラットの右脚から摘出した大腿骨は、付着した組織片を取り除いた後、100℃で24時間乾燥して重量を測定した。その結果、Ⅰ群のラットの体重100gあたり  
25 群ではⅠ群と比較して骨重量の低下を抑制する傾向が見られた(表4)。

表 4 卵巣摘出ラットの骨重量

	大腿骨乾燥重量(mg) (体重 100g あたり)	
I 群	87.9±	1.3
II 群	89.5±	1.8
III 群	90.9±	2.7
IV 群	93.1±	2.6
V 群	112.8±	1.4

脂質代謝改善効果の判定：

- ラットの血液から血漿を分離して、自動分析装置（日立）にてトリグリセリド
- 5 を測定した。I 群で見られた著しいトリグリセリド値の上昇に対して、II 群では抑制傾向、III 群および IV 群では有意な抑制効果が見られた(表 5)。

表 5 卵巣摘出ラットの血中トリグリセリド値

	血中トリグリセリド (mg/dl)	
I 群	50.3±	7.5
II 群	38.6±	3.5
III 群	32.0±	3.2 *
IV 群	28.9±	3.1 **
V 群	24.7±	1.9 **

(\*:P<0.05,

\*\*:P<0.01vs I 群)

- 上記の試験例から、SDG は脂質および骨に対する効果を有し、また、イソフ
- 10 ラボンと組み合わせることによりその作用が増加することが示され、両者を併用利用することが有効であることが示された。

#### 実施例 6

効能 2 ; 抗肥満効果

7週齢の雌性 Wister 系ラットを卵巣摘出し、サンプルを1日1回金属製胃ゾンデを用いて強制経口投与した。投与期間は術後14日間とした。各群のn数は8匹とした。

5 体重を測定し、閉経後の食欲促進による肥満に対する効果を調べた。サンプルは、陽性対照として $17\beta$ エストラジオール、また、比較サンプルとしては大豆イソフラボンの主要化合物であるゲニステインを用いた。また、SDGは組成物4を用いた。

10 結果を図2に示す。体重の変化は、SDG50mg/Kg、 $17\beta$ エストラジオール(0.02mg/kg) およびゲニステイン100mg/Kg 摂取において体重増加が抑制された。

#### 実施例7

効能3；ほてりの改善とイソフラボンとの相乗効果

更年期モデル動物を用いた試験

15 閉経後のエストロゲンの急激な低下によってホルモンのバランスが崩れ、自律神経の乱れが生じることによってほてりなどの血管運動障害様の症状が現れる。実験動物においては、雌ラットの卵巣摘出によって尾部皮膚温度が上昇し、更年期障害のほてりに相当する症状が観察される。卵巣摘出ラットにSDGおよび大豆イソフラボンを摂取させ、尾部皮膚温度を測定した。

卵巣摘出による骨粗鬆症モデルラットの作製：

20 Wistar 系ラット（日本チャールズリバー）、♀、41匹に6週齢で卵巣摘出手術、同週齢の9匹に擬似手術を施し、ラット用一般試料CE-2（日本クレア）にて飼育した。1週間後、卵巣摘出ラットを5群（ $n=7\sim9$ ）に分け、それぞれI～V群とした。陽性対象として、擬似手術を施した卵巣非摘出群（ $n=9$ ）を設けた。

25 卵巣摘出ラットの飼育：

飼料は、AIN-93M 配合 Ca 無添加精製飼料（オリエンタル酵母工業製）を基本飼料として、I群、V群および卵巣非摘出群に4週間自由に摂取させた。II群には大豆イソフラボン、III群にはSDG（組成物4）、IV群には大豆イソフラボンおよびSDGを基本飼料にそれぞれ0.1%添加した飼料を摂取させた。V群に



- は試験飼料摂取期間中、 $17\beta$  エストラジオールを  $1\mu\text{g/day}$  となるように皮下投与した。飼育期間中にラットの尾部皮膚温度を微小精密温度計 BAT-12R(Physitemp 製)によって測定した。卵巢摘出によってラットの尾部皮膚温度は上昇するが、イソフラボンおよびSDG摂取によって上昇が抑制された。この作用は両者の併用によって更に顕著となり、両者を併用利用することが有効であることが示された(図3)。

#### 効能4；子宮重量に対するSDGとイソフラボンの影響

- 実施例7において、試験終了時にラットを剖検し、子宮重量を測定した。卵巢摘出によって子宮は萎縮し重量が低下するが、 $17\beta$  エストラジオールを投与したV群の子宮は萎縮が見られず、重量は卵巢非摘出群と同程度であった。これに対してII群～IV群はI群と同程度で、子宮の萎縮を抑制する作用が見られなかった。

表6 卵巢摘出ラットの子宮重量

子宮重量 (mg)	
I 群	93.7 $\pm$ 3.9
II 群	95.1 $\pm$ 6.4
III 群	105.5 $\pm$ 6.8
IV 群	100.7 $\pm$ 4.3
V 群	443.9 $\pm$ 28.8 ***
卵巢非摘出群	524.3 $\pm$ 71.4 ***

\*\*\*  $P < 0.001$  vs I 群

#### 15 実施例8

##### 効能5；更年期女性の不定愁訴改善効果

- 組成物4を3.3重量%、大豆イソフラボンを6.7重量%、ビタミンEを0.5重量%含有するタブレットを定法により製造し、試験用タブレットとした。閉経に伴う更年期特有の不定愁訴を訴える女性33名に試験用タブレットを1日あたり3粒(約600mg) ずつ4週間摂取してもらい、Kupperman 更年期指数に準じて各症状の変化をアンケート調査した。アンケート結果を集計した結果、眩暈、頭痛、憂鬱感、

疲労感、関節痛、筋肉痛が有意に改善し、ほてり、冷えなどの血管運動神経障害様症状は改善傾向が見られた。また、各モニターの簡易更年期指数（SMI）は、摂取前期間と比較して有意に低下した(図4)。

#### 実施例 9

#### 5 SDGを含有するタブレットの調製

表7に示した配合でそれぞれの粉体をミキサーで均一に混合し、打錠機を用いて1粒200mgのタブレットを打錠した。次にコーティングパン上でセラックを噴霧、乾燥させて、タブレットを製造した。

表7

	レシピ1	レシピ2	レシピ3
成分	配合量 (%)	配合量 (%)	配合量 (%)
抽出物3	30	8	15
大豆イソフラビン (30%含有)		22	15
ビタミンE	9		5
乳糖	18	25	25
セルロース	5	34	29
還元麦芽糖	15		
カルシウム	14	8	8
コーンスターチ	5		
ショ糖脂肪酸エステル	4	3	3
合計	100	100	100

10

#### 実施例 10

#### SDGを含有するパンの調製

本発明のSDG40%含有抽出物1gをドライイースト3g、小麦粉500g、砂糖50g、卵1個、塩2g、水300mlと共にボウルに入れて、混ぜてよくこねた。15分間発酵させた後、ガス抜きをして、さらに15分間発酵させた。ガス抜きをして、20等分して丸く成形した。サラダ油を薄くぬったオープン皿に並べて1時間2次発酵させた後、180度に熱したオーブンで20分間焼いて、パ

15

ンを製造した。

### 実施例 1 1

#### 飲料

- 20Lの飲料水に、クエン酸ナトリウム1g、グルコース200g、SDG 80%含有抽出物1gを添加し溶解させた後、クエン酸にてpH4.0に調整後、シトラス香料を添加し、120mlの褐色ビンに詰めて飲料を製造した。

### 産業上の利用可能性

- 本発明によれば、女性ホルモン様活性を有するエンテロラクトン、およびエンテロジオールなどの前駆体となることが知られているSDG（セコイソラリシネシロール ジグリコシド）を高含有する新規食品素材およびこれを配合した種々の形態の飲食品の製造が可能となる。

- こうしたSDG含有飲食品、特にSDGとイソフラボンとを含有する飲食品は、女性ホルモンの乱れからくる諸症状、たとえば更年期障害、骨粗鬆症、高脂血症、高血圧症、肥満、鬱、ほてりなどの諸症状を改善できること、あるいは美容効果が期待できる点で、その開発により健康に関する大きな恩恵をもたらすことが期待できる。

## 請求の範囲

1. セコイソラリシネシロール ジグリコシド (SDG) 含有植物素材を塩  
5 基性アルコールで抽出することを特徴とするSDG高含有物の製造法。
2. SDG含有植物素材が亜麻種子である、請求項1に記載のSDG高含有物の製造法。
3. 亜麻種子が脱脂亜麻粕である請求項2のSDG高含有物の製造法。
4. アルコール濃度が30から100% (v/v) である請求項1から3のいずれか1  
10 項に記載のSDG含有組成物の製造法。
5. 塩基性アルコールが0.05から2Nのアルカリを含むアルコールである請求項1から4のいずれか1項に記載のSDG含有組成物の製造法。
6. 請求項1から5のいずれか1項に記載された製造法により製造されたSDG高含有物。
- 15 7. 請求項6に記載されたSDG高含有物からなる飲食物素材。
8. 請求項7に記載された飲食物素材を含有する飲食物。
9. SDGを1日の摂取量として1~1000mg含有する、請求項8に記載の飲食物。
10. SDGを重量当たり0.001~90重量%含有する、請求項8に記載の飲  
20 食物。
11. SDGを1日の摂取量として10~90mg含有する形態にある請求項8に記載の飲食物。
12. SDGおよびイソフラボン類を含有する飲食物。
13. SDGを1日の摂取量として1~1000mg含有する、請求項12に記載  
25 の飲食物。
14. SDGを重量当たり0.001~90重量%含有する、請求項12に記載の飲食物。
15. SDGを1日の摂取量として10~90mg含有する形態にある請求項12に記載の飲食物。

16. イソフラボン類を1日当たり10~90mg摂取できる形態にある、請求項12に記載の飲食物。

17. SDGが天然物から抽出されたものである、請求項12から16のいずれか1項に記載の飲食物。

5 18. 該天然物がSDG含有植物素材である、請求項17に記載の飲食物。

19. 該SDG含有植物素材が亜麻種子である、請求項18に記載の飲食物。

20. 女性ホルモンの乱れからくる諸症状の予防および／または改善効果を有する、請求項8から19のいずれか1項に記載の飲食物。

10 21. 更年期障害の症状の予防および／または改善効果を有する、請求項8から19のいずれか1項に記載の飲食物。

22. 骨粗鬆症、高脂血症、高血圧症、肥満、鬱、ほてりのうち選ばれた1つ以上の症状の予防および／または改善効果を有する、請求項8から19のいずれか1項に記載の飲食物。

15 23. 該飲食物が、パン、ビスケットなどの焼き菓子、ジュース、無糖茶などの飲料、酒類、スープ、飴、ガム、ヨーグルト、アイスクリーム、プディング、ゼリーから選ばれたものである、請求項8から19のいずれか1項に記載の飲食物。

20 24. 該飲食物が、粉末、顆粒、タブレット、ソフトカプセル、ハードカプセル、内服液、シロップより選ばれた加工形態である、請求項8から19のいずれか1項に記載の飲食物。

図 1

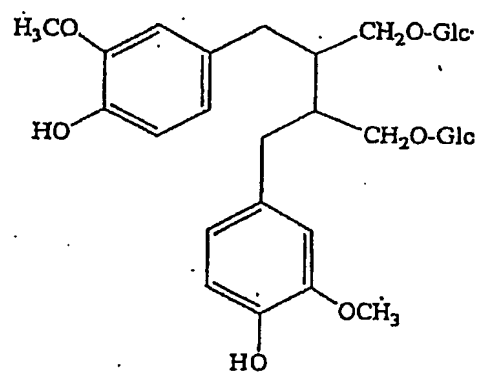
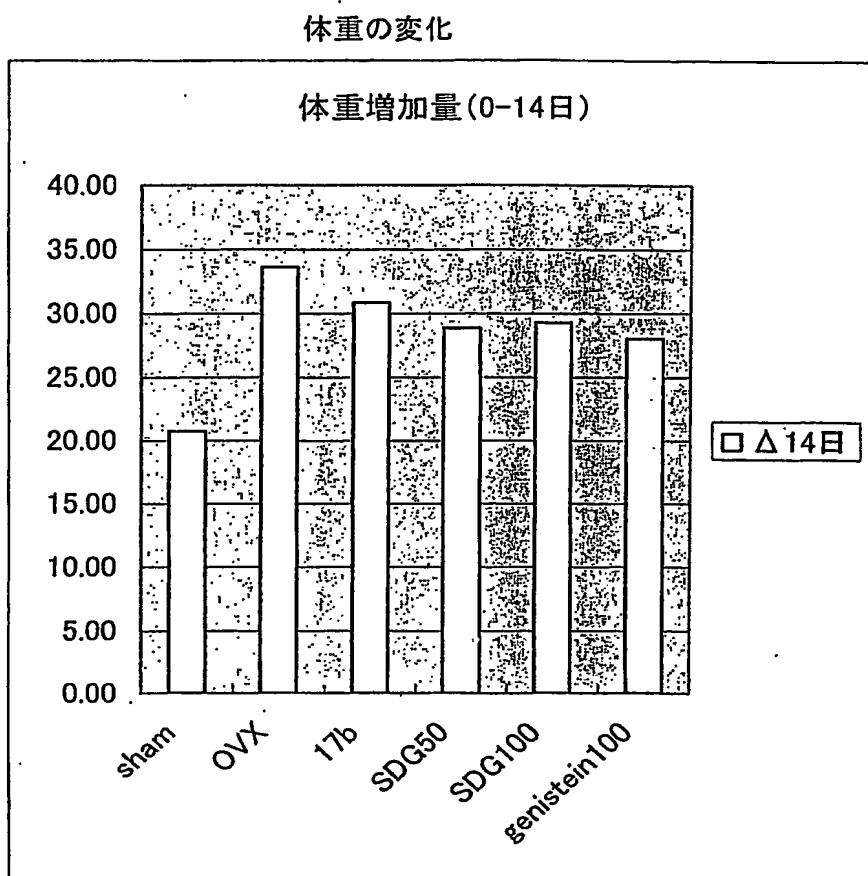


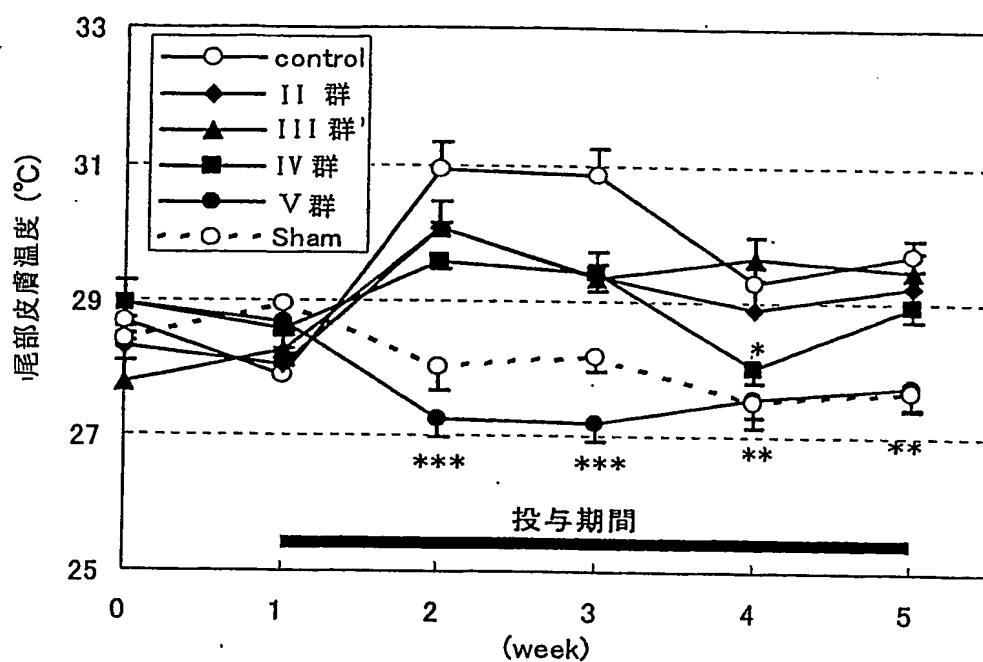
図 2



BEST AVAILABLE COPY

図 3

## 更年期モデルラットの尾部皮膚温度の推移

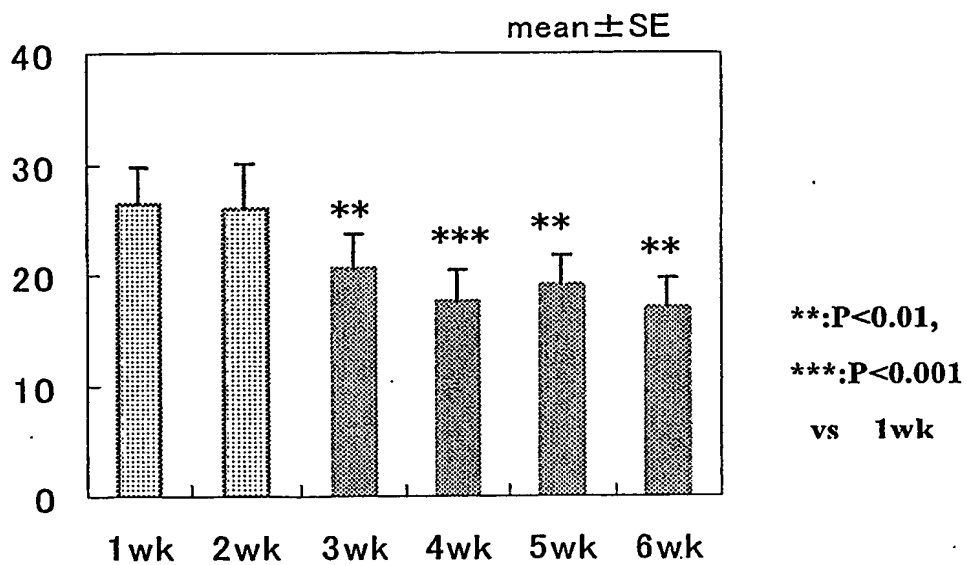


\*:  $P < 0.05$  vs control, \*\*:  $P < 0.01$  vs control, \*\*\*:  $P < 0.001$  vs control



図 4

## 簡易更年期指数(SMI)の推移



BEST AVAILABLE COPY

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP03/02850

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER  
Int.Cl<sup>7</sup> A23L1/30

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl<sup>7</sup> A23L1/30, A23L1/308, A61K31/352, A61K31/7032, A61K35/78

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)  
JICST FILE (JOIS)

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X A	JP 9-208461 A (The Nisshin Oil Mills, Ltd.), 12 August, 1997 (12.08.97), (Family: none)	<u>7-11</u> 1-6
X	EP 906761 A2 (ARCHER-DANIELS MIDLAND CO.), 07 April, 1999 (07.04.99), & JP 11-221048 A & BR 9805069 A & US 6261565 B1	12-24

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☐ See patent family annex.

\* Special categories of cited documents:  
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance  
"E" earlier document but published on or after the international filing date  
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)  
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means  
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention  
"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone  
"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art  
"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search  
09 May, 2003 (09.05.03)

Date of mailing of the international search report  
27 May, 2003 (27.05.03)

Name and mailing address of the ISA/  
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

## A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int.Cl<sup>1</sup> A23L1/30

## B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int.Cl<sup>1</sup> A23L1/30, A23L1/308, A61K31/352, A61K31/7032,  
A61K35/78

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

JICSTファイル (JOIS)

## C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
<u>X</u> A	JP 9-208461 A (日清製油株式会社) 1997. 08. 12 (ファミリーなし)	<u>7-11</u> 1-6
X	EP 906761 A2 (ARCHER-DANIELS MIDLAND CO) 1999. 04. 07 & JP 11-221048 A & BR 9805069 A & US 6261565 B1	12-24

☐ C欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

## \* 引用文献のカテゴリー

「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの

「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの

「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)

「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献

「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの

「&amp;」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

09.05.03

国際調査報告の発送日

27.05.03

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)

郵便番号100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

鈴木 恵理子

4N

8114

電話番号 03-3581-1101 内線 3448